

棉铃虫质型多角体病毒的形成

乐云仙 吴友吕 陈仲宜

陈梅琴 苏德明

(复旦大学生物系)

目前已知棉铃虫病毒病共有四种类型:核型多角体病毒病,质型多角体病毒病,颗粒体病毒病和虹彩病毒病(Martignoni & Iwai 1977; Stadelbacher et al. 1978)。棉铃虫的质型多角体病毒(简称 CPV)常与核型多角体病毒混合发生,给寄主的正常饲养繁殖和核型多角体病毒的增殖利用带来了重大困难。此外,对这类病毒在防治棉铃虫的作用方面也需要作出正确的评价。我们曾报道过棉铃虫质型病毒的分离、特征和病理学(苏德明等, 1978),本文应用电子显微镜技术研究该病毒在寄主中肠上皮细胞内的形成过程,以进一步阐明其增殖发病机理,并为其利用研究提供依据。

材 料 和 方 法

材料:棉铃虫幼虫系在室内用半人工饲料饲养,饲养温度 25—26℃。CPV 亦系本实验室在棉铃虫幼虫中分离获得。

方法

1. 感染:用 1.17×10^8 多角体/毫升的 CPV 悬液给 4 龄幼虫添食,然后在 25—26℃ 中饲养。

2. 组织学和细胞学观察:幼虫经 CPV 感染后,分别于 24、48、72 小时取样解剖。首先镜检血淋巴和消化道,然后剪取一段中肠,并纵切为二部分,一部分用 Bouin-Duboscq 液固定,作石蜡切片,厚度为 6 μ , Hamm 氏染色;另一部分用 2.5% 戊二醛与 1% 锇酸固定,环氧树脂 #618 包埋,作超薄切片,厚度为 300 Å,醋酸铀、柠檬酸铅染色。用 Hitachi-11B 电子显微镜观察。

结 果

1. 中肠上皮细胞的超微结构

棉铃虫中肠上皮的细胞组成和超微结构与其它鳞翅目幼虫相似,其上皮细胞由柱状细胞、杯状细胞和再生细胞构成。前二类细胞朝向肠腔的一端由微绒毛构成,其直径范围为 72—124m μ 。在杯状细胞中微绒毛的管内普遍有线粒体存在(图版 1:2)。细胞核为椭圆或近圆形,核质内有电子致密的染色质团块。细胞质内的细胞器有内质网、线粒体和液泡等(图版 1:1, 2)。

2. CPV 在细胞内的形成过程

棉铃虫幼虫中肠上皮受 CPV 感染后,病毒在柱状细胞和杯状细胞内增殖并形成大量多角体。这些过程只发生于细胞质内,而细胞核则仍保持其正常结构。

感染后 24 小时,在细胞质中出现“成病毒基质”(virogenic stroma),并有病毒粒子散见其中(图版 1:3)。成病毒基质的电子透明度与周围的细胞质显著不同,也无任何细胞器存在。病毒粒子在基质中的排列颇为密集,但相互游离,并无一定规律性。

随着病情的进一步发展,病毒多角体开始形成。感染后 48 小时已可看到多角体出现在细胞质中,在它的蛋白质基质内随机排列着成病毒粒子,这时有不少成病毒粒子正沿着它的边缘“进入”多角体基质中。此外,在多角体附近还分散存在着大量游离的病毒粒子(图版 1:4)。

在病毒感染后 72 小时,在杯状细胞和柱状细胞的细胞质内充满了多角体和游离的成病毒粒子(图版 1:5)。此时检查被感染幼虫的消化道内含物就可找到成熟的多角体。

值得注意的是,在感染后 72 小时的柱状细胞细胞质内出现的近球状粒子团,它们常和成病毒基质邻接发生(图版 1:6),它们的大小约为 53×70 毫微米,在粒子的四周和粒子之间布满着核糖体。

讨 论

迄今为止,有关 CPV 增殖的研究多数是以敏感寄主为对象进行的,而作为病毒源的材料又往往没有经过仔细的物理化学特征鉴定(Payne & Harrap 1977)。尽管如此,这类研究仍然为了解 CPV 增殖的机理提供了有价值的结果。我们的研究表明,棉铃虫 CPV 的形成过程和其它鳞翅目的 CPV,例如褐脉金斑蝶 *Danaus plexippus* CPV (Arnett et al. 1968) 是相似的。对其它 CPV 的研究表明,在多数情况下,病毒 RNA 的合成是在寄主细胞核内进行的,而病毒增殖的其余阶段则局限于细胞质内。从早期出现成病毒基质到晚期形成成病毒粒子和完整的多角体,由 CPV 造成的明显病理变化也都在细胞质部分,而细胞核仍保持其正常的超微结构。在 CPV 成病毒粒子的装配程序上学者们有不同见解(Payne & Harrap, 1977)。本研究结果是符合 Bird (1965) 的看法的,即成病毒粒子的“髓核”部分先形成,然后再由蛋白质衣壳包裹于外。

本研究中所观察到的细胞质中的近球形粒子团结构是饶有兴趣的。它和成病毒基质的邻接紧密关系表明,这一结构可能和 CPV 的形成存在某种联系。对于这点还需作进一步的研究。

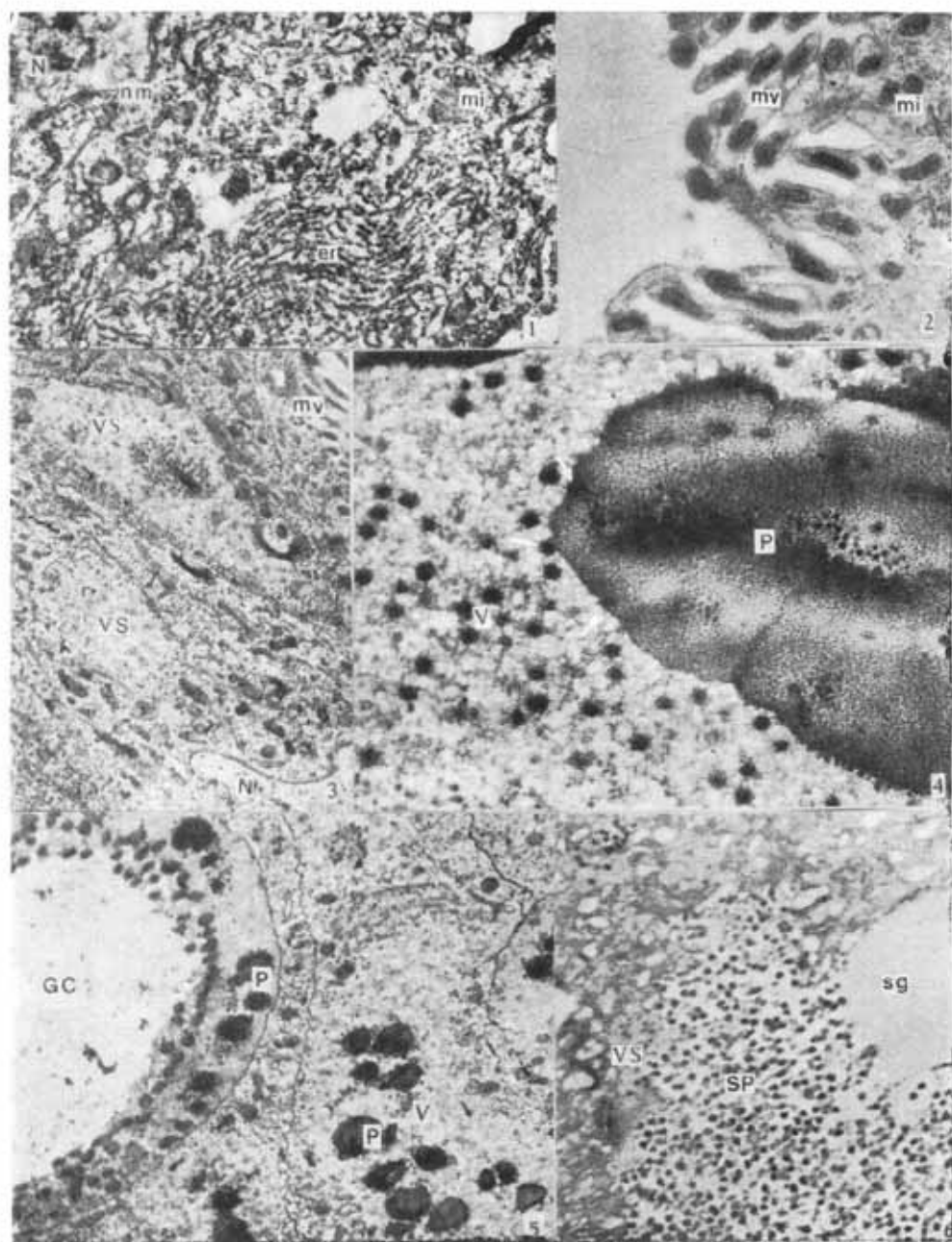
参 考 文 献

- 苏德明等 1978 棉铃虫质型多角体病毒病的研究。复旦大学学报 1: 74—8。
- Arnett, H. J. et al. 1968 Ultrastructure of a cytoplasmic virus affecting the monarch butterfly, *Danaus plexippus*. 1. Development of virus and normal polyhedra in the larva. J. Ultrastruct. Res. 24: 479—507.
- Bird, F. T. 1965 On the morphology and development of insect cytoplasmic polyhedrosis virus particles. Can. J. Microbiol. 11: 497—501.
- Martignoni, M. E. & P. J. Iwai. 1977 A Catalog of Viral Diseases of Insect and Mites. 2nd Edition. USDA Forest Service Tech. Rep. PNW-40.
- Payne, C. C. & K. A. Harrap. 1977 Cytoplasmic polyhedrosis viruses. In: The Atlas of Insect and Plant Viruses (ed. by Maramorosch, K.), pp. 105—129. Academic Press, New York.
- Stadelbacher, E. A. et al. 1978 An iridescent virus of the bollworm *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Invert. Pathol., 32: 71—8.

MORPHOGENESIS OF THE CYTOPLASMIC POLYHEDROSIS VIRUS OF THE COTTON BOLLWORM, *HELIOTHIS ARMIGERA* (HÜBNER)

YUE YUN-XIAN WU YOU-LU CHEN ZHONG-YI CHEN MEI-QIN SU TE-MING

(Biology Department, Fudan University)



1. 棉铃虫 4 龄幼虫中肠的柱状细胞, 示部分细胞核和细胞质。×25,000
 2. 棉铃虫幼虫中肠杯状细胞的微绒毛 ×25,000
 3. 感染 CPV 后 24 小时的柱状细胞和杯状细胞, 示“成病毒基质”和病毒粒子。×10,000
 4. 感染 CPV 后 48 小时的柱状细胞, 示多角体, 游离成病毒粒子以及正在“吸附”到多角体内的或病毒粒子(箭头)。×50,000
 5. 感染 CPV 后 72 小时的柱状细胞和杯状细胞, 示细胞质中的多角体和游离成病毒粒子。×10,000
 6. 感染 CPV 后 72 小时的柱状细胞, 示球形粒子团与成病毒基质和成病毒粒子。×20,000
- GC 杯状细胞的杯腔 N 细胞核 P 多角体 SP 球形粒子团 V 成病毒粒子
VS 成病毒基质 er 内质网 mi 线粒体 mv 微绒毛 nm 核膜 sg 分泌颗粒。